Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Diaphorasen- und Dehydrogenasen-Lokalisation in der jungen und reifen menschlichen Plazenta

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ursula Lindner
aus Nürnberg

1970

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547609_0090

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. med. Hans Roemer

Diaphorasen- und Dehydrogenasen-Lokalisation in der jungen und reifen menschlichen Plazenta

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

dem Fachbereich Klinische Medizin
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Ursula Lindner
aus Nürnberg

1970

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. med. J. Hirschmann

1. Berichterstatter: Professor Dr. med. P.A. König
2. Berichterstatter: Professor Dr. med. H. Roemer

FOTODRUCK PRÄZIS Barbara v. Spangenberg KG · Tübingen

Herrn Dozent Dr. med. K ö n i g danke ich für das Überlassen des Themas und die jederzeit hilfsbereite Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

		Seite
Einleitung		4
I	NADH- und NADPH-Diaphorase	6
II	Citronensäurecyclus	11
	1. Succinatdehydrogenase	11
	2. Isocitratdehydrogenase	16
	3. Malatdehydrogenase	20
III	Laktatdehydrogenase	23
IV	Pentosephosphatcyclus	26
	Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	26
V	Hydroxysteroid-Dehydrogenasen	30
	1. 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase	31
	2. 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase	35
VI	Die Beziehungen der Diaphorasen- und Dehydrogenasenaktivitäten zu den Funktionen der menschlichen Plazenta	40
Zusammenfassung		49
Literaturverzeichnis		53

Einleitung

Die Kenntnisse über die Funktionen der Plazenta wurden in den letzten Jahrzehnten erweitert. Die Plazenta stellt bei der Ernährung des Foeten aus dem Blut des mütterlichen Organismus nicht nur eine passive Barriere im Sinne einer semi-permeablen Membran dar, sie ermöglicht auch durch aktive Selektion die Passage von Nährstoffen und die Elimination foetaler Abbauprodukte. Gleichzeitig ist sie ein innersekretorisches Organ, das dem mütterlichen Organismus die Anpassung an die Schwangerschaft ermöglicht.

Die Histochemie versucht, eine Brücke zwischen den Ergebnissen der Histologie und der Biochemie zu schlagen und die funktionelle Morphologie der Plazenta aufzudecken. Besonders die Enzymhistochemie vermag einen Einblick in die biologischen Aktivitäten der einzelnen Zellformationen zu geben.

Die Techniken zur histochemischen Darstellung der einzelnen Enzyme sind inzwischen ausreichend gesichert. Es liegt schon eine Anzahl von Untersuchungen von Fermenten der Plazenta vor, teils wurden nur einzelne Enzyme nachgewiesen, teils mehrere Fermentaktivitäten miteinander verglichen. DAIBER (1966) entwarf ein Enzymmuster der menschlichen Plazenta mit 16 untersuchten Fermenten und verglich ihre Ergebnisse mit den Resultaten anderer Untersucher.

In der vorliegenden Untersuchung werden durch die Lokalisation von Dehydrogenasen Aktivitäten verschiedener Stoffwechselkreise sichtbar gemacht, die für die Plazentafunktionen besondere Bedeutung haben. Es werden 32 Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 bis 40 Wochen untersucht. Sie werden bei Aborten, Tubaraborten und Interruptionen, bei denen wegen der Art der mütterlichen Grund-

krankheit Plazentaveränderungen nicht wahrscheinlich sind, außerdem bei Toxikosen und normalen Geburten gewonnen. Dieses Material ermöglicht sowohl einen Einblick in die Reifungsvorgänge der Plazenta als auch vergleichende Betrachtungen des Stoffwechsels normaler und pathologischer Plazenten.

Im Vergleich mit anderen histochemischen und biochemischen Untersuchungen werden durch die Fermentlokalisationen die Bedeutung der einzelnen Zellformationen im Stoffwechsel aufgezeigt. Die Wirkung der verschiedenen Plazentahormone auf die Fermente sowie der Weg der Hormonproduktion und ihre Regulationsmechanismen in der Plazenta werden erörtert, um einen Beitrag zur Aufklärung der funktionellen Morphologie der Plazenta zu leisten.

I N A D H - u n d N A D P H - D i a p h o r a s e n

Biochemie

Als Diaphorasen werden Teilenzyme der biologischen Oxydation bezeichnet, die zwischen den Pyridincoenzymen und dem Cytochromsystem eingeschaltet sind. Sie sind Flavoproteide. Sie oxydieren reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid (NADH) bzw. reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (NADPH) und geben den Wasserstoff an andere, ungenügend bekannte Überträger weiter. Es wurden verschiedene Enzyme mit Diaphoraseaktivität isoliert. Eines der Fermente ist spezifisch für NADH. Es überträgt den Wasserstoff auf reduzierbare Farbstoffe, aber nicht auf Cytochrom c, und kommt in vielen tierischen Geweben und Mikroorganismen vor. Es ist möglich, daß die beobachtete Wirkung auf NADPH durch das Vorhandensein einer Cytochromreduktase vorgetäuscht wird (MYRBÄCK)1959). Das sogenannte neue gelbe Enzym dagegen wird von NADPH reduziert und von reduzierbaren Farbstoffen sowie von Sauerstoff reoxydiert, jedoch ebenfalls nicht von Cytochrom c. Aufgrund der Diaphoraseaktivität der Cytochrom c-Reduktase und ihrer ähnlichen physikalischen Eigenschaften und Lokalisation wird eine sehr enge Beziehung zwischen NADH-Diaphorase und NADH-Cytochrom c-Reduktase angenommen (ANDERSON und BARKA 1963). WATARI und Mitarbeiter (1963) kamen bei ihren Untersuchungen hingegen zu der Überzeugung, daß sämtliche in der Literatur beschriebenen NADH-Cytochrom c-Reduktasen Artefakte sind, die bei der Isolierung entstehen.

Histochemie

Die NADH- und die NADPH-Diaphorasen übertragen Wasserstoff und Elektronen direkt von den reduzierten Coenzymen auf das Tetrazoliumsalz (PEARSE 1960). HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) standen zum ersten Mal NADH und NADPH

für die histochemische Darstellung der Diaphorasen zur Verfügung. Vorher konnten die reduzierten Coenzyme nur durch Dehydrogenasen im Gewebe selbst erzeugt werden, das mit entsprechenden Substraten und Coenzymen inkubiert wurde.

In der reifen menschlichen Plazenta fanden KELLOG und GLENNER (1960) die stärkste NADH-Diaphoraseaktivität im Trophoblast und in den Gefäßwänden. Das Zottengewebe wies nur sehr geringe Formazanablagerungen auf. Das Verteilungsmuster der NADPH-Diaphorase war dem der NADH-Diaphorase ähnlich. BOSS und CRAIG (1962)stellten fest, daß die Differenzierung des Cytotrophoblast zum Syncytium mit einem Anstieg der Fermentaktivität einhergeht. Nach Beobachtungen von STRAUSS und HIERSCHE (1963) verteilen sich die Formazankristalle feingranulär im gesamten Syncytium und lagern sich an die Oberfläche des fermentfreien Zellkernes an. WACHSTEIN und Mitarbeiter (1963) vermuten, daß die granulären Formazanablagerungen der Fermentaktivität in den Mitochondrien entsprechen. Sie fanden auch viele Formazangranula diffus im Cytoplasma verteilt. Fast alle Zellen wiesen Diaphoraseaktivität auf. Nekroseherde reagierten nicht. Die Trophoblastzellen besaßen die stärksten Formazanablagerungen an den Zellgrenzen, die Bindegewebszellen zeigten perinukleäre Färbung. Die NADPH-Diaphorase hatte auch bei WACHSTEIN und Mitarbeiter ein ähnliches Verteilungsmuster wie die NADH-Diaphorase. Bei Plazenten normaler und pathologischer Schwangerschaften konntenCURZEN (1962) keine Unterschiede der Diaphoraseaktivitäten feststellen und ebenso wie VOLLRATH (1965) keine Schwankungen im Verlauf der Gravidität nachweisen.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

In 16 Plazenten wurde die NADH-Diaphorase histochemisch dargestellt. Die Plazenten stammten von Schwangerschaften von 7 Wochen (Interruptio), 8 Wochen (Abort), 9 Wochen (1Abort, 1 Tubarabort und 1 Interruptio), 11 Wochen (Interruptio), 12 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio), 14 Wochen (Windei), 15, 18, 20, 22 Wochen (je 1 Abort), 36 Wochen (Geburtseinleitung wegen Nephropathie) und 40 Wochen (1 normale und 1 Spontangeburt bei Eklampsie mit tödlichem Ausgang).

Die NADPH-Diaphorase wurde in 9 Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 Wochen (Interruptio), 8 Wochen, 9 Wochen (je 1 Tubarabort), 11 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio), 15 Wochen (Abort), 36 Wochen (Geburtseinleitung wegen Nephropathie) und 40 Wochen (2 Spontangeburten) histochemisch nachgewiesen.

Die unfixierten Kryostatschnitte wurden nach der Methode von NASU und VIALE (1961) 30 Minuten bei 37°C in folgender Lösung inkubiert:

0,1 ml NADH bzw. NADPH (0,1 mol)
0,1 ml Nitro-BT (5 mg/ml)
0,1 ml Natriumcyanid (0,1 mol)
0,4 ml Phosphatpuffer (0,1 mol; p_H 7,4)
0,3 ml Aq.dest.

Danach wurden die Schnitte in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. Die Orte der Fermentaktivität wurden durch blaues Formazan gekennzeichnet.

b) Befunde

Trophoblast. Das Syncytium wies sowohl mit NADH als auch mit NADPH sehr starke Reaktionen auf. Der Cytotrophoblast reagierte mit NADH ebenso stark wie das Syncytium. Mit NADPH wurden bei der Mehrzahl der untersuchten Plazenten, in denen Cyto- und Syncytiotrophoblast unterschieden werden konnten, im Cytotrophoblast

nur sehr geringe Formazanablagerungen beobachtet. Bei einer Plazenta war die Reaktion im Cytotrophoblast nur wenig vermindert gegenüber dem Syncytium, und in einer anderen reagierten beide Zellschichten gleich stark.

Stroma und Gefäße. Die Bindegewebszellen reagierten in Zotten und Gefäßwänden mit NADH mäßig stark, mit NADPH etwas schwächer.

Decidua. In den Deciduazellen waren sowohl mit NADH als auch mit NADPH sehr starke Fermentaktivitäten nachzuweisen.

Die Fermentaktivitäten zeigten keine Änderungen im Verlauf der Gravidität.

Tabelle Nr.1

Lokalisation der NADH-Diaphorase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	+++	+++	+++	++	++
8 Wochen	++	++		+	+
9 Wochen	+++	+++	+++	++	++
	+++	+++	++	++	
	+++	+++	+++	+	+
11 Wochen	+++	+++	+++	++	++
12 Wochen	+++	+++	+++	+	
13 Wochen	+++	+++	+++	+	+
14 Wochen	++	++	++	+	+
15 Wochen	+++	+++	+++	++	++
18 Wochen	++	++	++	+	+
20 Wochen	++	++	++	++	
22 Wochen	++	++	+++	+	+
36 Wochen	+++		+++	++	
40 Wochen	+		+++	+	
	++		+++	++	++
Auswertung	+++	+++	+++	++	+

Tabelle Nr.2

Lokalisation der NADPH-Diaphorase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	+++	+	+++	++	+
8 Wochen	++	(+)		(+)	+
9 Wochen	++	(+)	++	(+)	(+)
11 Wochen	+++	+	++	+	+
13 Wochen	+++	++	+++	++	++
15 Wochen	+++	+++	+++	++	++
36 Wochen	+++		+++	++	
40 Wochen	++		++	+	
	++		++	(+)	(+)
Auswertung	+++	(+)/+++	+++	+	+

II Citronensäurecyclus

Der Citronensäurecyclus findet sich als gemeinsames Endglied des oxydativen Stoffwechsels aller Körperbausteine nahezu universell in Pflanzen, Mikroorganismen und tierischen Geweben. Der Energiegewinn ist gering, da außer exergonischen auch endergonische Prozesse stattfinden. Die Oxydationsenergie wird erst außerhalb des Cyclus in der Atmungskette gewonnen durch den bei den verschiedenen Dehydrierungen abgespaltenen Wasserstoff. Die Intermediärprodukte des Citronensäurecyclus sind auch bei der gegenseitigen Umwandlung von Kohlehydraten, Fetten und Eiweißen beteiligt.

Zur histochemischen Darstellung der Aktivität des Citronensäurecyclus eignen sich am besten die Succinat- und die Malatdehydrogenase (PEARSE 1960). Die Isocitratdehydrogenase erzeugt α-Ketoglutarsäure auch für Synthesen. In der vorliegenden Untersuchung werden die Succinat-, die NADP-abhängige Isocitrat- und die NAD-Malatdehydrogenase erfaßt.

1. Succinatdehydrogenase

Biochemie

Die Succinatdehydrogenase katalysiert substratspezifisch die reversible Oxydation von Bernsteinsäure zu Fumarsäure. Sie ist eine der wenigen Dehydrogenasen, die ohne Vermittlung eines Pyridinnucleotids die Elektronen direkt auf die Fermente der Atmungskette übertragen. Sie ist ein Flavinenzym; die prosthetische Gruppe ist Flavinadenin-dinucleotid. Das Ferment liegt in dem Komplex der Succinooxydase zusammen mit Cytochrom b, e (Slator's factor), und c sowie der Cytochromoxydase fest an die Mito-

chondrien gebunden vor; es ist also unlöslich im Gegensatz zu den meisten anderen Dehydrogenasen. Die Fermentaktivität ist an eine SH-Gruppe gebunden, die mit großer Geschwindigkeit Verbindungen mit Dicarbonsäuren eingeht. Eine Anhäufung von Fumarsäure, Malonsäure oder Oxalessigsäure wirkt dadurch hemmend auf die Oxydation der Bernsteinsäure im Sinne eines Rückkopplungsmechanismuses. ATP und Mg^{++}-Ionen aktivieren das Ferment. Al^{+++}-, Ca^{++}- und HCO_3^--Ionen zeigen ebenfalls diese Wirkung, greifen aber nicht an der Succinatdehydrogenase selbst an, sondern an den folgenden Gliedern der Succinooxydasekette. Das Enzym ist empfindlich gegen Austrocknung und wird durch Fixationsmittel inaktiviert.

In der Toxikoseplazenta soll nach PAGE (1948) die Aktivität der Succinatdehydrogenase vermindert sein (nach KYANK 1957). CARENZA und deMARCO (1956; nach VELARDO und ROSA 1960) fanden sie bei Übertragung von mehr als zehn Tagen stark herabgesetzt. KYANK (1957) hingegen konnte nur in einem Fall einer schweren Eklampsie mit tödlichem Ausgang unter zwanzig Spätschwangerschaftstoxikosen eine Verminderung der Aktivität der Succinatdehydrogenase in den nicht infarzierten Anteilen der Plazenta feststellen.

Histochemie

SELIGMAN und RUTENBURG (1951) gelang es zum ersten Mal, die Aktivität der Succinatdehydrogenase durch die Reduktion von Tetrazolium-Blau zu Formazan histochemisch zu lokalisieren. Das Enzym überträgt den Wasserstoff nicht direkt auf das Tetrazoliumsalz, ein komplexes Fermentsystem ist dazwischengeschaltet. Wie SELIGMAN und RUTENBURG fanden auch MALATY und BOURNE (1953) die Aktivität der Succinatdehydrogenase an die Mitochondrien der intakten Zelle gebunden. Die ersten Formazanablagerungen sind dort zu beobachten. Bei fortgesetzter Bebrütung wachsen die blauen Kristalle so stark, daß die ursprüngliche Form der

Mitochondrien meist unkenntlich wird. Die Zellkerne zeigen keine Fermentaktivität. Von der diffusen rötlichen Reaktion im Cytoplasma vermutete PADYKULA (1958), daß sie durch in Lipiden gelöstes Formazan entsteht. Wenn sich diese rötliche Farbe in einem Gewebe ohne sichtbare Formazangranula entwickelt, so wird nach SELIGMAN und RUTENBURG angenommen, daß das ein Hinweis ist auf sehr geringe Aktivität der Succinatdehydrogenase.

FORAKER und Mitarbeiter (1954) fanden in der Kaninchenplazenta eine starke Reaktion in Syncytium und Endometriumdrüsen, eine weniger intensive im Cytotrophoblast. Myometrium, Deciduazellen und Gefäße wiesen eine mäßige Aktivität auf, die Stromazellen eine sehr geringe. PADYKULA (1958) sah in der Plazenta der Albinoratte die gleiche Verteilung und stellte fest, daß im Gegensatz zu den Blutgefäßen des Uterus die übrigen Endothelien des Körpers keine Reaktionen zeigen. REALE und PIPINO (1959) untersuchten die Fermentaktivität in den vier Plazentatypen nach der Einteilung von GROSSER (epithelio-chorial, syndesmo-chorial, endothelio-chorial, hämo-chorial).Sie war dort am größten, wo das Chorionepithel in Kontakt mit der Histotrophe war, d.h. wo der Nährstoffaustausch zwischen den Epithelien des Endometriums und dem Chorion stattfindet. Demnach war die Aktivität der Succinatdehydrogenase in der hämo-chorialen Plazenta des Menschen schwächer als in den anderen Plazentatypen, wie auch schon TELLKÄ und LETHO (1954, nach VELARDO und ROSA 1960) in Untersuchungen an menschlichen Plazenten und denen verschiedener Nagetiere bemerkten. Allgemein stellten sie fest, daß die Reaktionen in den Deciduazellen sehr intensiv sind. Im Trophoblast war die Fermentaktivität nur mäßig stark, im Syncytium schwächer als in den Langhanszellen. Dasselbe Verteilungsmuster fanden WACHSTEIN und Mitarbeiter (1963) in der reifen menschlichen Plazenta. BOSS und CRAIG (1962) sowie WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) beobachteten hingegen nur extrem schwache oder negative Reaktionen in der

reifen menschlichen Plazenta. CURZEN (1964) fand bei der Untersuchung von 42 Plazenten normaler und pathologischer Schwangerschaften verschiedenen Alters nur in den Deciduazellen Fermentaktivität.

Eine Zunahme der anfänglich geringen Aktivität im Verlauf der Gravidität stellte VOLLHARDT (1965) in der Meerschweinchenplazenta fest. In der menschlichen Plazenta dagegen fand DAIBER (1966) keine Veränderung. Zu allen Zeiten zeigten Syncytiotrophoblast, Cytotrophoblast und Deciduazellen starke, Gefäße und Zottenstroma schwache Reaktionen.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

Die Succinatdehydrogenase wurde in 17 Plazenten histochemisch untersucht. Die Plazenten stammten von Schwangerschaften von 8 Wochen (2 Tubaraborte und 1 Abort), 9 Wochen (1 Interruptio, 1 Abort und 1 Tubarabort), 11 Wochen (Interruptio), 12 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio), 14 Wochen (Windei), 18 Wochen (Abort), 19 Wochen (Interruptio), 20, 22 Wochen (je 1 Abort), 36 Wochen (Geburtseinleitung wegen Nephropathie), und 40 Wochen (2 Spontangeburten).

Die Inkubation von frischen Kryostatschnitten erfolgte nach der Methode von NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN für 15 Minuten bei 37°C in einer Lösung von

0,5 ml Natriumsuccinat (0,2 mol)
0,5 ml Phosphatpuffer (0,2 mol; p_H 7,6)
1,0 ml Nitro-BT (1,0 mg/ml)

Anschließend wurden die Schnitte in physiologischer Kochsalzlösung gespült, in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. Die Orte der Fermentaktivität wurden durch blaues Formazan gekennzeichnet.

b) Befunde

Trophoblast. In allen untersuchten Plazenten war in Syncytio- und Cytotrophoblast eine mäßig starke Reaktion der Succinatdehydrogenase nachzuweisen.

Stroma und Gefäße. Im Zottengewebe und in den Gefäßwänden waren die Fermentreaktionen schwach positiv.

Decidua. Die Reaktionen in den Deciduazellen waren mäßig stark bis schwach, in den meisten Plazenten ebenso intensiv wie im Trophoblast, in einigen schwächer.

Tabelle Nr.3

Lokalisation der Succinatdehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
8 Wochen	+	+	+	(+)	(+)
	+	+		+	+
	++	++		+	+
9 Wochen	+	+		(+)	(+)
	+	+	+	(+)	(+)
	+	+	+	(+)	(+)
11 Wochen	+	+	+	+	(+)
12 Wochen	+	+	(+)	(+)	(+)
13 Wochen	+	+	(+)	(+)	(+)
14 Wochen	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
18 Wochen	+	+		(+)	(+)
19 Wochen	+	+	+	(+)	(+)
20 Wochen	+	+	+	+	(+)
22 Wochen	++	++	+	+	+
36 Wochen	+			+	+
40 Wochen	++		++	+	+
	+		+	(+)	(+)
Auswertung	+	+	+	(+)	(+)

2. Isocitratdehydrogenase

Biochemie

Die Isocitratdehydrogenase katalysiert unter Mitwirkung von Mg^{++}-Ionen. Die entstehende Oxalbernsteinsäure zerfällt nicht spontan zu Kohlensäure und α-Ketoglutarsäure, wie eine ältere Theorie annahm. Das Fermentprotein der Isocitratdehydrogenase bewirkt in Verbindung mit Mn^{++}-Ionen wahrscheinlich auch diesen Reaktionsschritt; es scheint kein anderes Enzym speziell für diese Decarboxylierung zu existieren (ENGLARD und COLOWICH 1957, nach LEUTHARDT 1963). Beide Vorgänge sind reversibel, das Gleichgewicht liegt zu Gunsten der Decarboxylierung. Außer dem für NADP-spezifischen Enzym kommt in tierischen Geweben in kleinen Mengen ein wenig stabiles NAD-spezifisches Enzym gleicher Wirkung vor, das von PLAUT und SUNG (1954) gereinigt wurde. Die α-Ketoglutarsäure ist nicht nur ein Zwischenglied des Citronensäurecyclus, sondern wird auch bei Transaminierungen benötigt.

In der Plazenta wurde ein Ferment vermutet, das durch Oestrogene aktiviert wird, vielleicht durch Bindung des inaktiven Proteins an das Hormon (HAGERMANN und VILLEE 1957). Schon länger war bekannt, daß Oestrogene in kleisten Mengen den Sauerstoffverbrauch von Plazentaschnitten und -homogenaten durch Stimulierung des Citronensäurecyclus steigern (VILLEE und HAGERMANN 1953). VILLEE (1955) vermutete gesteigerte Aktivität einer NAD-spezifischen Isocitratdehydrogenase. Später stellten er und Mitarbeiter aufgrund ihrer Untersuchungen die Hypothese auf, es handele sich nicht um ein einheitliches Ferment, sondern um eine durch Oestrogene auf unbekannte Weise stimulierbare Transhydrogenase und die in allen Geweben vorhandene an NADP gebundene Isocitratdehydrogenase. Diese Transhydrogenase kann ebenso mit der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

und wahrscheinlich mit jedem anderen System verbunden sein, das NADPH erzeugt. Diese Fermentkombination ist nicht in Leber und Niere zu beobachten, sondern nur in Organen, die als Wirkungsorte der Oestrogene bekannt sind (VILLEE 1955).

Histochemie

In der normalen reifen menschlichen Plazenta fanden WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) bei histochemischen Untersuchungen die Aktivität der Isocitratdehydrogenase im Trophoblast stärker als die der anderen untersuchten Dehydrogenasen. Stromazellen und Blutgefäße zeigten sehr schwache oder gar keine Reaktionen. DAIBER (1966) stellte mit NADP an Plazenten verschiedenen Alters starke Fermentaktivitäten in Syncytio- und Cytotrophoblast und schwache in Stroma, Blutgefäßen und Deciduazellen fest. Bei dem an NAD gebundenen Ferment wiesen BOSS und CRAIG (1962) intensive Reaktionen in Syncytiotrophoblast, Decidua und Drüsenepithelien nach, im Cytotrophoblast der jungen Plazenta etwas schwächere und sehr geringe Aktivität in Zottenstroma und Chorionplatte. Keiner der Untersucher konnte Veränderungen während des Schwangerschaftsverlaufes beobachten.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

In 9 verschiedenen Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 Wochen (Interruptio), 8 Wochen (Tubarabort), 9 Wochen (1 Abort und 1 Tubarabort), 20 Wochen (Abort), 22 Wochen (Abort), und 40 Wochen (3 Spontangeburten) wurde die Isocitratdehydrogenase histochemisch lokalisiert.

Frische Kryostatschnitte wurden nach der von HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) angegebenen, leicht modifizierten Methode behandelt. Das Inkubationsmedium

bestand aus

0,25 ml Natriumisocitrat (1,0 mol)
0,25 ml NADP (7,5 mg/ml)
0,625 ml Nitro-BT (1 mg/ml)
0,25 ml Natriumcyanid (0,1 mol)
0,25 ml Magnesiumchlorid (0,05 mol)
0,625 ml Tris-Puffer (0,2 mol; p_H 7,0)
0,2 ml Aq.dest.

Das in der Originalmethode angegebene Polyvinypyrrolidon konnte ohne Auswirkung auf die Ergebnisse weggelassen werden. Die Schnitte wurden bei 37°C für 30 Minuten inkubiert, anschließend in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. An den Orten der Fermentaktivität findet sich blaues Formazan.

b) Befunde

Trophoblast. Das Syncytium zeigte in allen untersuchten Plazenten dichte Formazanablagerungen. Der Cytotrophoblast wies im Vergleich dazu eine viel geringere Reaktion auf.

Zottenstroma und Gefäße. Die Bindegewebszellen, die Kapillaren und die größeren Gefäße der Zotten reagierten nur schwach positiv.

Decidua. In den Deciduazellen war die Reaktion ebenso stark wie im Syncytiotrophoblast.

Im Verlauf der Schwangerschaft konnte keine Veränderung der Fermentaktivität festgestellt werden.

Tabelle Nr.4

Lokalisation der Isocitratdehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	++	(+)		(+)	(+)
8 Wochen	++	(+)		(+)	(+)
9 Wochen	+++	+	++	+	+
	++	(+)	+++	(+)	(+)
20 Wochen	++	(+)	++	(+)	+
22 Wochen	++	(+)	++	+	+
40 Wochen	+++		+++	+	(+)
	++		++	(+)	(+)
	+++			(+)	(+)
Auswertung	++	(+)	++	(+)	(+)

3. Malatdehydrogenase

Biochemie

Die umkehrbare Dehydrogenierung von Äpfelsäure zu Oxalessigsäure erfolgt durch Enzyme vieler tierischer Gewebe. Diese Enzyme sind absolut spezifisch für L-Malat. Es gibt zwei Fermente, die in der Zelle nebeneinander vorkommen; eines ist in den Mitochondrien, das andere im Cytoplasma lokalisiert. Beide Fermente sind NAD-abhängig. Nur das in den Mitochondrien vorkommende Ferment wird durch die entstehende Oxalessigsäure gehemmt. In vielen tierischen Geweben findet sich außerdem noch eine NADP-abhängige decarboxylierende Malatdehydrogenase ("malic enzyme"), die ebenfalls spezifisch für L-Malat ist. Ein einheitliches Ferment bildet in Gegenwart von Mn^{++}-Ionen aus Äpfelsäure Brenztraubensäure und Kohlendioxyd. Diese Reaktion ist dem von der Isocitratdehydrogenase katalysierten Vorgang vergleichbar.

STARK und OWEIS (1963) bestimmten biochemisch die Aktivität der Malatdehydrogenase in der menschlichen Plazenta und stellten eine Zunahme der Fermentaktivität im Verlauf der Gravidität fest, die sich statistisch jedoch nicht sichern ließ. Zwischen den Plazenten normaler und pathologischer Schwangerschaften zeigten sich keine Aktivitätsunterschiede.

Histochemie

HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) gaben eine Methode für den histochemischen Nachweis der NAD- und der NADP-abhängigen Malatdehydrogenase an. In der menschlichen Plazenta wiesen CURZEN (1962) sowie BOSS und CRAIG (1962) das NAD-abhängige Ferment in allen Stadien der Schwangerschaft nach. CURZEN fand keine Aktivitätsunterschiede zwischen normalen und pathologischen Plazenten. DAIBER

(1966) stellte bei Plazenten der 30. und der 34.Schwangerschaftswoche starke Fermentaktivitäten in Syncytium, Cytotrophoblast und Deciduazellen fest und mäßig starke Reaktionen in Wanderzellen, Zottenstroma und Gefäßen.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

Die Malatdehydrogenase wurde in 4 Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 Wochen (Interruptio), 9 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio) und 40 Wochen (Spontangeburt) histochemisch untersucht.

Unfixierte Kryostatschnitte wurden nach der Methode von HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) 30 Minuten bei 37°C in folgender Lösung inkubiert:

0,25 ml L-Äpfelsäure (1,0 mol)
0,25 ml NAD (7,5 mg/ml)
0,625 ml Nitro-BT (1 mg/ml)
0,25 ml Natriumcyanid (0,1 mol)
0,25 ml Magnesiumchlorid (0,05 mol)
0,625 ml Phosphatpuffer (0,06 mol; p_H 6,8 - 7)
0,2 ml Aq.dest.

Anschließend wurden die Schnitte in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. Blaue Formazankristalle kennzeichnen die Orte der Fermentaktivität.

b) Befunde

Trophoblast. Die Malatdehydrogenase wies in allen untersuchten Plazenten sowohl im Syncytio- als auch im Cytotrophoblast starke Fermentaktivitäten auf.

Stroma und Gefäße. Stromazellen und Gefäßwände reagierten intensiv.

Decidua. In den Deciduazellen waren die Reaktionen ebenso stark wie im Trophoblast.

Im Verlauf der Schwangerschaft konnte keine Veränderung der Fermentaktivität festgestellt werden.

Tabelle Nr.5

Lokalisation der Malatdehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	++	++	++	++	++
9 Wochen	++	++	++	++	++
13 Wochen	++	++	++	++	++
40 Wochen	++		++	++	++
Auswertung	++	++	++	++	++

III Laktatdehydrogenase

Biochemie

Die Aktivität der Laktatdehydrogenase gibt einen Hinweis auf die Kapazität der anaeroben Phase des Kohlenhydratabbaues in einem tierischen Gewebe. Das Ferment katalysiert die reversible Umwandlung der L(+)-Milchsäure zu Brenztraubensäure. Als Coferment dient vorwiegend NAD; NADP hat nur eine schwache Wirkung.

Wenn die Oxydation der Brenztraubensäure im Citronensäurecyclus nicht Schritt halten kann mit deren Produktion in der Glykolyse, kommt es zur Milchsäurebildung durch die Laktatdehydrogenase. Auf dem Blutweg wird die Milchsäure dann entweder in die Leber transportiert, dort wieder zu Brenztraubensäure oxydiert und in Umkehr der Glykolyse zu Glykogen aufgebaut oder in anderen Organen, wie z.B. im Herezn zur Energiegewinnung verwendet.

Histochemie

Mit der von ihnen entwickelten Methode zur histochemischen Darstellung Coenzym-abhängiger Dehydrogenasen lokalisierten HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) die Laktatdehydrogenase in den Mitochondrien.

In der menschlichen Plazenta fanden BOSS und CRAIG (1962) die stärkste Fermentaktivität im Syncytiotrophoblast. Der Cytotrophoblast reagierte schwächer. Deciduazellen und Drüsenepithelien zeigten intensive, Zottenstroma und Chorionplatte geringe Reaktionen. Die beiden Autoren stellten keine Änderung der Aktivität mit fortschreitender Gravidität fest. LOBEL und Mitarbeiter (1962) kamen zu den gleichen Ergebnissen, ebenso DAIBER (1966), nur fand DAIBER in Syncytium und Cytotrophoblast gleich starke Formazanablagerungen. WACHSTEIN und Mitarbeiter (1963) sahen im Cytotrophoblast stärkere Reaktionen

als im Syncytium. Sie fanden die Formazankristalle im Trophoblast vorwiegend an den Zellgrenzen. STARK und OWEIS (1963) sowie CURZEN (1964) konnten keine Unterschiede in den Reaktionen bei normalen und pathologischen Schwangerschaften erkennen. Auch zwischen Dauer der Gravidität und Stärke der Fermentaktivität konnten sie keine signifikanten Korrelationen feststellen. VOLLRATH (1965) dagegen fand eine Abnahme der Reaktionsstärke gegen Ende der Gravidität.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

Die Aktivität der Laktatdehydrogenase wurde in 15 Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 Wochen (Interruptio), 8 Wochen (1 Abort und 1 Tubarabort), 9 Wochen (1 Abort und 1 Tubarabort), 11 Wochen (Abort), 12 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio), 14 Wochen (Windei), 15,18,20,22 Wochen (je 1 Abort), 36 Wochen (Geburtseinleitung wegen Nephropathie) und 40 Wochen (1 Spontangeburt bei Eklampsie mit tödlichem Ausgang).

Die Inkubationslösung wurde nach der von HESS, SCARPELLI und PEARSE angegebenen Methode hergestellt, jedoch ohne Polyvinypyrrolidon. Sie enthielt:

0,25 ml Natrium-DL-Laktat (1,0 mol)
0,25 ml NAD (7,5 mg/ml)
0,625 ml Nitro-BT (1 mg/ml)
0,25 ml Natriumcyanid (0,1 mol)
0,25 ml Magnesiumchlorid (0,05 mol)
0,625 ml Phosphatpuffer (0,06 mol; p_H 6,8 - 7,0)
0,2 ml Aq.dest.

Frische Kryostatschnitte wurden bei 37°C für 30 Minuten inkubiert, anschließend in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. Blaue Formazanablagerungen kennzeichnen die Orte der Enzymaktivität.

b) Befunde

Trophoblast. Beide Zellformationen des Trophoblast zeigten in allen untersuchten Plazenten starke bis mäßig starke Reaktionen, der Cytotrophoblast gelegentlich etwas schwächere als das Syncytium.

Stroma und Gefäße. Die Stromazellen und die Gefäßwände reagierten mäßig stark.

Decidua. Die Deciduazellen wiesen ebenso dichte Formazanablagerungen auf wie das Syncytium.

Eine Verminderung der Fermentaktivität mit zunehmendem Alter der Plazenta konnte nicht festgestellt werden.

Tabelle Nr.6

Lokalisation der Laktatdehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	++	++	++	+	+
8 Wochen	++	++	++	++	++
	+++	++	++	+	
9 Wochen	+	+	+	(+)	+
	++	++	++	+	+
11 Wochen	+	+	+	+	+
12 Wochen	++	++	++	+	+
13 Wochen	+	+		(+)	(+)
14 Wochen	++	++	++	+	+
15 Wochen	+	+	+	+	+
18 Wochen	++	++	++	+	
20 Wochen	+	+	+	(+)	
22 Wochen	++	+	++	+	+
36 Wochen	+		+	+	+
40 Wochen	+		++	+	
Auswertung	++	++	++	+	+

IV Pentosephosphatcyclus

Der Pentosephosphatcyclus stellt neben der Glycolyse einen weiteren Weg des Kohlenhydratabbaues dar. Der Energiegewinn ist dabei gering. In diesem Cyclus entstehen die Pentosen für die Synthese der Nucleotide und Nucleinsäuren, die in einem so rasch wachsenden Organ, wie es die Plazenta ist, sehr wichtig sind und auch zur Produktion des Choriongonadotropins benötigt werden. Außerdem wird bei den beiden Dehydrierungen, die im Cyclus stattfinden, NADPH gebildet, das für verschiedene reduktive Synthesen notwendig ist, z.B. auch für den Aufbau der Steroidhormone.

Von den beiden Dehydrogenasen des Pentosephosphatcyclus (Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und 6-phosphogluconat--Dehydrogenase) wird hier die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase untersucht, um seine Aktivität in den verschiedenen Zellformationen der Plazenta nachzuweisen.

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

Biochemie

Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase katalysiert den ersten Reaktionsschritt des Pentosephosphatcyclus, die Oxydation des Glucose-6-phosphats zum δ-Lacton der 6-phosphogluconsäure. Sie kann nur NADP als Coferment verwenden, NAD zeigt keine Wirkung. In den Geweben mit Steroidproduktion besitzt das Ferment große Aktivität. In der Plazenta wurde es zum ersten Mal von VILLEE und Mitarbeitern (1960) beschrieben. Diese Autoren fanden eine Hemmung des Fermentes durch 17ß-Oestradiol. BETZ und WARREN (1965) bestätigten diese Angaben und stellten auch bei Pregnenolon und Dehydroepiandrosteron eine Hemmwirkung fest. Da die Gluco-

se-6-phosphat-Dehydrogenase durch die NADP-Produktion für die Steroidsynthese von Bedeutung ist, wurde vermutet, daß die Steroide im Sinne einer Rückkopplung das Ferment beeinflussen. Die zur Hemmung notwendigen Steroidkonzentrationen übertrafen jedoch die in der Plazenta natürlich vorkommenden Hormonmengen.

Histochemie

HESS und Mitarbeiter (1958) gaben eine Methode zur histochemischen Darstellung der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase an und fanden das Enzym in den Mitochondrien lokalisiert. Dieser Befund widerspricht den biochemischen Untersuchungen an Plazentahomogenaten. Bis jetzt konnte noch keine Erklärung für diese unterschiedlichen Resultate gefunden werden. PEARSE (1960) meinte, daß vielleicht an diesem Ferment die größere Genauigkeit der histochemischen gegenüber den biochemischen Untersuchungen demonstriert werden könne.

In der menschlichen Plazenta sahen WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) sowie LOBEL und Mitarbeiter (1962) unterschiedlich starke Aktivitäten im Trophoblast und keine oder nur sehr mäßige Reaktionen in Zottenstroma und Blutgefäßen. BOSS und CRAIG (1962) sowie CURZEN (1964) konnten keine Änderung der Enzymaktivität während der Schwangerschaft und bei Toxikosen feststellen. VOLLRATH (1965) fand schon nach 16 Tagen starke Reaktionen und sah keine größeren Schwankungen bis zur Geburt.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase wurde in 15 Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 Wochen (Interruptio), 8 Wochen (Tubarabort), 9 Wochen (1 Abort und 1 Tubarabort), 12 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio), 14 Wochen (Windei), 18, 20, 22 Wochen (je 1 Abort), 36

Wochen (Geburtseinleitung wegen Nephropathie) und 40 Wochen (1 Spontangeburt bei schwerer Eklampsie mit tödlichem Ausgang und 3 normale Geburten) histochemisch untersucht.

Frische Kryostatschnitte wurden nach der Methode von HESS, SCARPELLI und PEARSE (1958) 30 Minuten bei 37°C in folgender Lösung inkubiert:

0,2 ml Glucose-6-phosphat (304 mg/ml)
0,2 ml NADP (7,5 mg/ml)
0,2 ml Magnesiumchlorid (0,05 mol)
0,2ml Natriumacid (0,1 mol)
0,7 ml Tris-Puffer (0,2 mol; p_H 6,8 - 7,4)
0,5 ml Nitro-BT (1 mg/ml)
0,1 ml Natriumfluorid (0,01 mol)

Das in der Originalmethode angegebene Polyvinypyrrolidon konnte ohne Auswirkung auf die Ergebnisse weggelassen werden. Anschließend wurden die Schnitte in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. An den Orten der Fermentaktivität findet sich blaues Formazan.

b) Befunde

Trophoblast. Die Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase zeigte im Syncytiotrophoblast starke Aktivität. In den Plazenten kurz vor und am Termin waren die Reaktionen schwächer. Der Cytotrophoblast reagierte im Gegensatz zum Syncytium in allen untersuchten Plazenten, in denen sich die beiden Zellformationen des Trophoblast unterscheiden ließen, sehr schwach. Bei zwei Plazenten waren die Reaktionen in Syncytio- und Cytotrophoblast gleich stark.

Stroma und Gefäße. Die Bindegewebszellen des Stromas und die Gefäßwände zeigten schwach positive Reaktionen.

Decidua. Die Deciduazellen reagierten mäßig stark.

In der Plazenta eines Windeies war die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase in Syncytium und Decidua schwächer als in den anderen untersuchten Plazenten.

Tabelle Nr.7

Lokalisation der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	++	+	+	+	+
8 Wochen	++	(+)		(+)	(+)
9 Wochen	++	+	+	(+)	-
	++	(+)	+	(+)	(+)
12 Wochen	+	-	(+)	-	-
13 Wochen	+++	+++		+	+
14 Wochen	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
18 Wochen	++	++		(+)	(+)
20 Wochen	++	+	+	(+)	(+)
22 Wochen	++	(+)	++	+	(+)
36 Wochen	+			(+)	(+)
40 Wochen	+			(+)	(+)
	+		+	(+)	
	+		+	(+)	(+)
	+			-	-
Auswertung	++	(+)	+	(+)	(+)

V Hydroxysteroid-Dehydrogenasen

Als Hydroxysteroid-Dehydrogenasen werden Enzyme bezeichnet, die von Pyridinnucleotiden abhängige, reversible Oxydationen von Hydroxygruppen an Steroidgerüsten oder an deren Seitenketten ausführen.

$$\text{Hydroxysteroid} + NAD^+(NADP^+) \rightleftharpoons \text{Ketosteroid} + NADH\ (NADPH) + H^+$$

Die einzelnen Fermente sind streng spezifisch in Bezug auf Stellung und sterische Konfiguration der Gruppen, mit denen sie reagieren (TALALAY 1957).

Seitdem WARTENBERG 1958 die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase histochemisch mit Hilfe eines Tetrazoliumsalzes nachwies, wurden ähnliche Methoden beschrieben zur Darstellung der 3∝-, 6ß-, 11∝-, 11ß-, 12∝-, 16∝-, 16ß-, 17∝-, 17ß-, 20∝-, 20ß-, 21- und 24-Hydroxysteroid-Dehydrogenasen. Die Literatur zu diesem Thema wurde von HART (1966A) durchgesehen. Dieser Autor prüfte die Anwesenheit all der genannten Dehydrogenasen in menschlichen Plazenten verschiedenen Alters und fand histochemisch nachweisbare Aktivitäten nur bei den 3ß-, 16ß- und 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenasen. Mit NAD als Coenzym ließen sich große, mit NADP nur mäßige Fermentaktivitäten erzielen. Nur der Trophoblast reagierte positiv. Es zeigten sich keine Veränderungen in den verschiedenen Stadien der Gravidität. In jungen Plazenten fanden sich Fermentaktivitäten sowohl im Syncytio- als auch im Cytotrophoblast. BAILLIE und Mitarbeiter (1965 und 1966) wiesen zusätzlich noch die 3∝-, 6ß- und 11ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenasen in der menschlichen Plazenta nach.

In der vorliegenden Untersuchung werden die 3ß- und die 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenasen jeweils mit NAD als Coenzym histochemisch nachgewiesen.

1. 3 ß - Hydroxysteroid - Dehydrogenase

Biochemie

Alle Gewebe, die Steroidhormone bilden, enthalten eine 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase. Die Substrate dieses Fermentes sind vor allem Pregnenolon und Dehydroepiandrosteron. Aus Pregnenolon entsteht Progesteron, das weiter zu Corticosteroiden, Androgenen und Oestrogenen biosynthetisiert werden kann. Dehydroepiandrosteron wird zu einem Androgen dehydriert, das weiter in Oestrogene umgewandelt werden kann.

Histochemie

WATTENBERG (1958) wies, wie oben schon erwähnt, als erster die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase histochemisch nach. Mit Dehydoepiandrosteron und Pregnenolon als Substrate fand er in Nebennierenrinde, Testes, Ovar und Leber von Kaninchen und im Syncytiotrophoblast reifer menschlicher Plazenten positive Reaktionen. LEAVY, DEANE und RUBIN (1959) gaben eine weitere Methode für den histochemischen Nachweis des Fermentes an. In der Folgezeit wurden die beiden Techniken von mehreren Untersuchern modifiziert.

Wie schon WATTENBERG fanden auch FUHRMANN (1961), LOBEL und Mitarbeiter (1962), GOLDBERG (1963), BAILLIE, CAMERON und Mitarbeiter (1965), KOIDE und MITSUDO (1965), HART (1966 A) und DAIBER (1966) in der reifen menschlichen Plazenta positive Reaktionen nur im Trophoblast, das Zottenstroma zeigte keine Formazanniederschläge. LOBEL und Mitarbeiter sowie HART und DAIBER, die nicht nur reife, sondern auch Plazenten ab der 6. Schwangerschaftswoche untersuchten, berichten über Fermentaktivitäten sowohl im Syncytio- als auch im Cytotrophoblast der jungen Plazenta. LOBEL und Mitarbeiter stellten eine leichte Abnahme der

Aktivität von der 6. Schwangerschaftswoche bis zum Termin fest. BAILLIE, CAMERON und Mitarbeiter benützten neben Dehydroepiandrosteron und Pregnenolon noch andere 3ß-Hydroxysteroide als Substrate und stellten in Plazenta und Nebennierenrinde mit Sulfatverbindungen der Steroide größere Fermentaktivitäten fest als mit den freien Steroiden. Eine besonders starke Reaktion sahen sie mit 3ß-Hydroxyandrost-5-en-17-on-sulfat und brachten dies in Zusammenhang mit der Oestrogensynthese in der Plazenta. KOIDE und MITSUDO testeten ebenfalls die Fermentaktivitäten mit verschiedenen Steroiden, auch mit Dehydroepiandrosteron und Pregnenolon, und fanden sowohl mit NAD als auch mit NADP mäßig starke Reaktionen. HART hingegen konnte mit diesen beiden genannten Substraten mit NAD starke und mit NADP nur mäßige Fermentaktivität feststellen.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

In 17 Plazenten im Schwangerschaftsalter von 7 Wochen (Interruptio), 8 Wochen (2 Tubaraborte), 9 Wochen (2 Tubaraborte, 1 Abort und 1 Interruptio), 10, 11, 12 Wochen (je 1 Abort), 13 Wochen (Interruptio), 14 Wochen (Windei), 15 Wochen (Abort) und 40 Wochen (1 Spontangeburt bei Eklampsie mit tödlichem Ausgang und 3 normale Geburten) wurde die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase histochemisch untersucht.

Frische Kryostatschnitte wurden nach der Methode von LEAVY, DEANE und RUBIN 5 Minuten bei Zimmertemperatur in 0,1 mol Phosphatpuffer von p_H 7,2 gelegt und anschließend in eiskaltem Aceton gespült. Danach wurden die Schnitte für 1 Stunde bei 37°C in folgender Lösung inkubiert:

1,0 mg 3ß-Hydroxysteroid (Dehydroepiandrosteron oder Pregnenolon) in Aceton gelöst
2,5 ml Propylenglykol

5,0 ml Nitro-BT (1,0 mg/ml)
3,5 ml Nicotinamid (1,6 mg/ml)
4,0 ml NAD (3,0 mg/ml)
20,0 ml Phosphatpuffer (0,1 mol; p_H 7,2)

Anschließend wurden die Präparate in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. Die Orte der Enzymaktivität sind durch blaues Formazan gekennzeichnet.

b) Befunde

Trophoblast. Die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase zeigte von der 7.Schwangerschaftswoche bis zum Termin im Syncytiotrophoblast mäßig starke Aktivität. Im Cytotrophoblast war keine Reaktion sichtbar.

Decidua, Stroma und Gefäße wiesen bei der überwiegenden Mehrzahl der untersuchten Plazenten keine histochemisch erfaßbare Fermentaktivität auf.

Eine Änderung der Fermentaktivität im Verlauf der Gravidität war nicht festzustellen.

Bei Inkubation in einem Medium ohne Substrat reagierten alle untersuchten Plazenten mit ganz wenigen Ausnahmen negativ.

Tabelle Nr.8

Lokalisation der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
7 Wochen	+	-		-	-
8 Wochen	(+)	-	-	-	-
	+	-	-	-	-
9 Wochen	+	-	+	(+)	-
	+	(+)	-	(+)	-
	+	-		-	-
	+	-	-	-	-
10 Wochen	+	-	-	-	-
11 Wochen	+	-	-	-	-
12 Wochen	+	-	-	-	-
13 Wochen	+	-	-	-	-
14 Wochen	(+)	-	-	-	-
15 Wochen	+	-	-	-	-
40 Wochen	(+)			-	-
	+		-	(+)	-
	+		-	(+)	-
	+		-	-	-
Auswertung	+	-	-	-	-

2. 17 ß - Hydroxysteroid - Dehydrogenase

Biochemie

Die 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase fanden LANGER und ENGEL (1958 und 1959) in hohem Maße für 17ß-Hydroxy- und 17ß-Ketosteroide mit einem aromatischen Ring A spezifisch. Sie stellten fest, daß das gereinigte lösliche Enzym der menschlichen Plazenta sowohl NAD als auch NADP als Wasserstoffakzeptoren verwenden kann. Die wichtigste Aufgabe des Fermentes in der Plazenta ist die reversible Oxydation von 17ß-Oestradiol zu Oestron.

Da unter dem Einfluß von Oestrogenen eine Wasserstoffübertragung von NADPH auf NAD beobachtet werden kann, stellten TALALAY und WILLIAMS-ASHMAN (1960) die Hypothese auf, die Reaktion würde durch die 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase in folgender Weise bewirkt:

$$\text{Oestron} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{17ß-Oestradiol} + \text{NADP}^+$$
$$\text{17ß-Oestradiol} + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{Oestron} + \text{NADH} + \text{H}^+$$

Untersuchungen von TALALAY und WILLIAMS-ASHMAN (1960) sowie HOLLANDER und Mitarbeiter (1958) unterstützten diese Hypothese. HAGERMANN, VILLEE und Mitarbeiter (1958 und 1960) brachten jedoch Beweise für die Existenz von drei verschiedenen Fermenten: eine von NAD und eine von NADP abhängige 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase und eine Pyridinnucleotid-Transhydrogenase, die den von KAPLAN und Mitarbeitern (1953) beschriebenen Fermenten entspricht und auf unbekannte Weise durch Oestrogene aktiviert wird. Die verschiedenen Untersuchungsergebnisse konnten noch nicht in Übereinstimmung gebracht werden.

Histochemie

Mit NAD konnten PEARSON und GROSE 1959 erstmals histochemisch eine 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase in Leber

und Dünndarm der Ratte darstellen. KELLOG und GLENNER wiesen 1960 in der reifen menschlichen Plazenta zwei Fermente nach, die sich deutlich durch die Lokalisation unterschieden. Ein von NAD abhängiges Ferment zeigte eine intensive Reaktion in Trophoblast und Decidua, eine schwächere im Zottenstroma. Mit NADP als Coferment ließen sich nur im perivaskulären Stroma Formazanablagerungen erzielen. Diese Ergebnisse widersprachen der Hypothese von TALALAY und WILLIAMS-ASHMAN (1960). Die Funktion einer Transhydrogenase könnte die 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase nur erfüllen, wenn sie ein einheitliches Ferment mit doppelter Cofermentspezifität wäre oder die beiden Fermente die gleiche Lokalisation hätten. KOIDE und MITSODO (1965) prüften die Fermentaktivität mit verschiedenen Substraten und NAD oder NADP als Cofaktoren. Mit 17ß-Oestradiol erzielten sie die gleichen Ergebnisse wie KELLOG und GLENNER. Mit Oestriol zeigte sich keine Reaktion. Bei Testosteron und anderen nicht aromatischen 17ß-Hydroxysteroiden fand sich sowohl mit NADP als auch mit NAD nur im perivaskulären Stroma Fermentaktivität. HART (1966 A) stellte mit 17ß-Oestradiol als Substrat starke Aktivität mit NAD und mäßig starke mit NADP im Trophoblast von Plazenten im Alter von 6 bis 42 Wochen fest. In unreifen Plazenten, in denen man Syncytio- und Cytotrophoblast unterscheiden konnte, zeigten beide Zellschichten Formazanablagerungen. Mit Testosteron fand HART mäßig starke Reaktionen in den Blutgefäßen reifer Plazenten und schwächere in denen unreifer Plazenten, im Gegensatz zu KOIDE und MITSUDO jedoch nur mit NAD, nicht mit NADP. In einer zweiten Untersuchung (1966 B) stellte er fest, daß an den Eihäuten nur das Amnionepithel Fermentaktivität aufweist; das Bindegewebe zeigt keine Aktivität und die Deciduazellen reagieren negativ. DAIBER (1966) erhielt sowohl mit NAD als auch mit NADP Formazanablagerungen im Trophoblast. Die Reaktion im Syncytium war etwas intensiver als im Cytotrophoblast, vor allem bei Inkubation mit NADP. Auch in Decidua, Zot-

tenstroma und Gefäßwänden fand sie mit beiden Cofermenten positive Reaktionen. Eine Verminderung der Enzymaktivität mit zunehmendem Alter der Plazenta konnte sie nicht feststellen.

Eigene Untersuchungen

a) Material und Methodik

Die 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase wurde in 17 Plazenten im Alter von 8 Wochen (2 Tubaraborte und 1 Abort), 9 Wochen (1 Interruptio, 1 Abort und 1 Tubarabort), 11 Wochen (1 Abort und 1 Interruptio), 12 Wochen (Abort), 13 Wochen (Interruptio), 15 Wochen (Abort) 19 Wochen (Interruptio), 20 Wochen (Abort), 36 Wochen (Geburtseinleitung wegen Nephropathie) und 40 Wochen (1 Spontangeburt bei Eklampsie mit tödlichem Ausgang und 2 normale Geburten) histochemisch nachgewiesen.

Die Inkubation erfolgte nach der leicht veränderten Methode von KELLOG und GLENNER. Frische Kryostatschnitte wurden bei 37°C für 3 Stunden in einer Lösung von

11,0 mg 17ß-Oestradiol in N,N-dimethylformamid gelöst
10,0 mg Nitro-BT
13,0 mg NAD
50,0 mg kristallinem Rinderalbumin
20,0 mg Trispuffer (2 mol; p_H 7,4)

inkubiert. Anschließend wurden die Präparate in 10-prozentigem Formalin fixiert und eingedeckt. Die Orte der Fermentaktivität werden durch blaues Formazan gekennzeichnet.

b) Befunde

Trophoblast. Im Trophoblast fanden sich in allen untersuchten Plazenten mäßig starke Reaktionen; Syncytium und Cytotrophoblast verhielten sich gleich.

Decidua. Die Formazanablagerungen waren in der Decidua von gleicher Stärke wie im Trophoblast.

Stroma und Gefäße. In den Bindegewebszellen und Gefäßwänden waren die Reaktionen mäßig stark bis gering.

Eine Änderung der Fermentaktivität mit zunehmendem Alter der Plazenta konnte nicht festgestellt werden.

Inkubation der Plazentaschnitte in einem Medium ohne Substrat ergab in einem Viertel der Fälle ganz schwache Reaktionen. Die übrigen Schnitte zeigten keine Färbung.

Tabelle Nr.9

Lokalisation der 17ß-Oestradiol-Dehydrogenase in der menschlichen Plazenta.

Alter der Plazenta	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
8 Wochen	+	+	+	(+)	(+)
	+	+	+	(+)	(+)
	+	+	+	+	+
9 Wochen	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
	+	+		(+)	+
11 Wochen	+	+	+	+	+
	+	+	+	+	+
12 Wochen	+	+	+	+	+
13 Wochen	+	+	+	+	+
15 Wochen	+	+	+	+	+
19 Wochen	+	+	+	+	+
20 Wochen	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
36 Wochen	+		+	(+)	(+)
40 Wochen	(+)			(+)	(+)
	+		+	(+)	(+)
	+			(+)	(+)
Auswertung	+	+	+	+	+

Tabelle Nr.10

Lokalisation von Diaphorasen und Dehydrogenasen in der menschlichen Plazenta.

Enzym	Trophoblast Syn.	Trophoblast Cyto.	Decidua	Stroma	Gefäße
NADH-Diaphorase	+++	+++	+++	++	+
NADPH-Diaphorase	+++	(+)/+++	+++	+	+
Succinat-dehydrogenase	+	+	+	(+)	(+)
Isocitrat-dehydrogenase	++	(+)	++	(+)	(+)
Malatdehydrogenase	++	++	++	++	++
Laktatdehydrogenase	++	++	++	+	+
Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase	++	(+)	+	(+)	(+)
3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase	+	-	-	-	-
17ß-Oestradiol-Dehydrogenase	+	+	+	+	+

VI Die Beziehungen der Diaphorasen- und Dehydrogenasen-aktivitäten zu den Funktionen der menschlichen Plazenta.

Die Plazenta ist ein sehr rasch wachsendes Organ mit hoher Stoffwechselleistung. Fast der gesamte Stoffaustausch zwischen Mutter und Foetus erfolgt durch aktive Transport- und Umbauvorgänge. Außerdem synthetisiert die Plazenta Choriongonadotropin sowie Oestrogene, Gestagene, Androgene und Corticosteroide.

Die Grundlage dieser verschiedenen Stoffwechselleistungen bilden die energieliefernden Prozesse des plazentaren Eigenstoffwechsels. Die hauptsächlich in Glykolyse, Citronensäurecyclus und Atmungskette gewonnene Energie wird als Adenosintriphophat den Zellen in verwertbarer Form zur Verfügung gestellt. Oestrogene bewirken in der Plazenta und in einigen anderen Geweben vermehrtes Wachstum und gesteigerte funktionelle Aktivität (VILLEE und HAGERMANN 1953; VILLEE 1955). Diese Wirkung läßt sich auf eine durch Oestrogene stimulierbare Pyridinnucleotid-Transhydrogenase zurückführen (VILLEE, HAGERMANN und JOEL 1960; TALALAY und WILLIAMS-ASHMAN 1960). Das Ferment überträgt Wasserstoff von NADPH auf NAD und stimuliert alle NADPH-produzierenden Systeme, indem es NADP zur Verfügung stellt. (Diese Transhydrogenase ist nicht identisch mit den Transhydrogenasen der Mitochondrien, deren Aktivität nicht durch Oestrogene beeinflußt wird und die in den meisten Geweben - auch in der Plazenta - vorhanden sind (VILLEE 1962). Über die NADP-abhängige Isocitratdehydrogenase steigern die Oestrogene auf diese Weise die Aktivität des Citronensäurecyclus und über die beiden NADP-abhängigen Fermente Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und 6-phosphogluconat-Dehydrogenase den Pentosephosphatcyclus. Die Hormone erhöhen somit die Energiegewinnung sowie die Nucleinsäure- und Eiweißsynthese und fördern dadurch das Wachstum und die Choriongonadotropinproduktion der Plazenta.

Es wird vermutet, daß die Oxydation von NADPH nicht mit der Synthese von Adenosintriphosphat gekoppelt ist, wenn der Wasserstoff nicht zuvor durch eine Transhydrogenase auf NAD übertragen wird (TALALAY und WILLIAMS-ASHMAN 1960). Nach dieser Hypothese würde die durch Oestrogene stimulierbare Pyridinnucleotid-Transhydrogenase auch auf diese Weise zur Energiegewinnung beitragen. Die Bedeutung der NADPH-Diaphorase wäre dann unklar.

LAPAN und FRIEDMAN (1965) verglichen in einer biochemischen Untersuchung Fermentaktivitäten der reifen Plazenta und der Eihäute. Die verschiedenen Fermente des Citronensäurecyclus wiesen untereinander sehr verschiedene Aktivitäten auf: die Aktivität der Malatdehydrogenase übertraf sowohl in der Plazenta als auch in den Eihäuten die der Isocitratdehydrogenase und die der Fumarase um ein Vielfaches. Die Succinatdehydrogenase wurde nicht untersucht. Die Werte, die KYANK (1957) für die Aktivität dieses Fermentes in der Plazenta angab, können nicht zum Vergleich mit den Ergebnissen von LAPAN und FRIEDMAN herangezogen werden, weil für sie ein anderes Bezugssystem verwendet wurde. Die Aktivität der Laktatdehydrogenase war in der Plazenta niedriger, in den Eihäuten jedoch höher als die der Malatdehydrogenase. Aufgrund dieser Befunde nahmen die Autoren an, daß der aerobe Stoffwechsel in der Plazenta stärker ist als in den Eihäuten. STARK und OWEIS (1963) fanden ebenfalls bei Messungen der Malat- und Laktatdehydrogenase-Aktivitäten in Plazenten verschiedenen Alters für die Malatdehydrogenase höhere Werte.

Die Laktatdehydrogenase in Plazenta, Eihäuten und Fruchtwasser gewinnt vor allem bei mangelhafter Sauerstoffversorgung des Foeten an Bedeutung. RAIHA (nach LAPAN und FRIEDMAN 1965) bestimmte mehrere organische Säuren in Fruchtwasser und Nabelschnurblut. Nur die Laktat- und Pyruvatkonzentrationen änderten sich entsprechend dem Grad der metabolischen Acidose und der Neugeborenenasphyxie. HENDRICHS (nach LAPAN und FRIEDMAN) schätzt, daß 29,6 Prozent der Milchsäure in der

Nabelarterie bei einer einzigen Passage durch die Plazenta entfernt werden.

Bei histochemischen Untersuchungen sind die oben genannten Unterschiede zwischn den Fermentaktivitäten nicht so eindeutig festzustellen. In der vorliegenden Untersuchung reagieren Malat-, Isocitrat- und Laktatdehydrogenase im Trophoblast und in der Decidua mit gleicher Intensität (über die sehr schwache Aktivität der Isocitratdehydrogenase im Cytotrophoblast vgl. nächsten Abschnitt), nur in den Stromazellen ist die Aktivität der Malatdehydrogenase stark, die der Laktatdehydrogenase mäßig und die der Isocitratdehydrogenase sehr schwach. Die Reaktionen der Succinatdehydrogenase sind im Vergleich dazu in allen Zellen geringer. WIELENGA und WILLIGHAGEN (1962) halten es für möglich, daß die geringe Aktivität der Succinatdehydrogenase und die hohen Aktivitäten der Coenzym-abhängigen Dehydrogenasen die im Vergleich zu anderen Organen sauerstoffarmen Bedingungen des Plazentarstoffwechsels widerspiegeln.

In der vorliegenden Untersuchung sind die sehr geringen Reaktionen der Isocitratdehydrogenase, Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase und NADPH-Diaphorase im Cytotrophoblast auffällig. Diese Befunde in den Langhanszellen weichen von den Beobachtungen anderer Autoren ab, sind jedoch sehr deutlich. So stark verminderte Aktivitäten der beiden Dehydrogenasen in dieser Zellformation widersprechen allen biochemischen Untersuchungen. Es wird allgemein als gesichert angenommen, daß im Cytotrophoblast die Choriongonadotropine produziert werden. Voraussetzung für diese Synthese ist die volle Funktionstüchtigkeit des Pentosephosphat- und des Citronensäurecyclus. Die Succinatdehydrogenase und die NAD-abhängige Malat- und Laktatdehydrogenase zeigen keine abgeschwächten Reaktionen dieser Zellschicht gegenüber anderen Zellformationen. Man muß annehmen, daß nur die Aktivität der NADPH-Diaphorase im Cytotrophoblast vermindert ist und den begrenzenden Faktor beim histochemischen Nachweis der beiden NADP-abhängigen Dehydrogenasen darstellt. Bei der angewandten Untersuchungsmethode

wird der Wasserstoff von den Cofermenten über die Diaphorasen auf das Tetrazoliumsalz übertragen (DEANE, BARNETT und SELIGMAN 1960). Unterstützt wird die Vermutung durch die Befunde bei einer Plazenta, die im Cytotrophoblast starke Aktivität der NADPH-Diaphorase und auch der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase aufwies.

Für diese verminderte Aktivität der NADPH-Diaphorase im Cytotrophoblast läßt sich keine Begründung finden, die über eine Spekulation hinausgehen würde. Man könnte vielleicht annehmen, daß das Ferment in Zellen, in denen die durch Oestrogene stimulierbare Pyridinnucleotid-Transhydrogenase besonders aktiv ist, nicht in so starkem Ausmaß benötigt wird. Wie oben schon erwähnt, wird in den Langhanszellen das Choriongonadotropin gebildet; die Transhydrogenase besitzt hier wahrscheinlich besonders große Aktivität, um den Pentosephosphatcyclus zu stimulieren. Im Syncytium dagegen ist diese Transhydrogenase vielleicht nicht so aktiv wie im Cytotrophoblast, da das NADPH in großem Maße zur Steroidsynthese benötigt wird, und die NADPH-Diaphorase dient als "Überlaufventil" für NADPH, das bei den Synthesen nicht gebraucht wird.

Bei keinem der untersuchten Fermente außer bei der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase ließen sich Aktivitätsänderungen im Verlauf der Gravidität feststellen. Die Aktivität der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase ist im Syncytium in Plazenten kurz vor und am Termin etwas schwächer als vorher. Die Befunde bei der NADPH-Diaphorase würden vermuten lassen, daß die Aktivität dieses Fermentes im Cytotrophoblast nur in den ersten drei Monaten der Gravidität gegenüber dem Syncytium vermindert sei. Nach der oben ausgeführten Vermutung müßte sich dieses Verhalten der Fermentaktivität auch bei den NADP-abhängigen Dehydrogenasen beobachten lassen. Eine größere Anzahl von Plazenten, die älter waren als die auf NADPH-Diaphorase untersuchten, zeigten jedoch gleichbleibend schwache Aktivitäten der NADP-abhängigen Dehydrogenasen im Cytotrophoblast.

Wie bei CURZEN (1962) und DAIBER (1966) können in der vorliegenden Untersuchung keine Unterschiede in den Fermentaktivitäten normaler und pathologischer Plazenten gefunden werden, außer bei der Plazenta eines Windeies. In diesem Fall sind die Aktivitäten der Succinat- und der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase deutlich gegenüber den Fermentaktivitäten anderer Plazenten vermindert. NADH-Diaphorase und Laktatdehydrogenase reagieren ebenso stark wie in anderen Plazenten und die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase nicht deutlich schwächer.

Bei biochemischen Versuchen fand KYANK (1958) in vitro keine Verminderung der Gewebsatmung der nicht infarzierten Anteile der Toxikoseplazenten gegenüber normalen gleichaltrigen Plazenten. Es besteht nach KYANK kein Anhalt für eine Schädigung des gesamten Organs. Biochemisch wurden zwar verschiedene Fermentaktivitäten vermindert gefunden gegenüber normalen gleichaltrigen Plazenten, darin kann man jedoch wahrscheinlich nur eine sekundär durch die Durchblutungsstörung entstandene Schädigung sehen und nicht eine primär fermentative Dysfunktion (KYANK).

Die Synthese von Gelbkörperhormon im Syncytium der Plazenta gilt heute als erwiesen. ZANDER (nach FUCHS 1962) stellte 1959 die Beweise, die sich dafür aus biochemischen Versuchen ergaben, zusammen. RYAN, MEIGS und PETRO (1966) zeigten , daß das Hormon in Plazentahomogenaten aus Cholesterin, das in der Plazenta reichlich vorhanden ist, vollständig synthetisiert wird.
Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse bestätigen, daß die Synthese des Hormons nur im Syncytium stattfindet; nur hier ließ sich die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase, die den letzten Reaktionsschritt der Synthese katalysiert, nachweisen.

Nach biochemischen Untersuchungen nehmen ZANDER und MÜNSTERMANN (1956) an, daß die Progesteronproduktion in der Plazenta schon von Beginn der Gravidität an große Bedeutung hat, denn bei Entfernung der Ovarien frühestens nach dem ersten Schwangerschaftsmonat bleibt die Gravidität erhalten. Bei drei Wochen alten Schwangerschaften bei Schafen sind nach Entfernung

der Ovarien Progesteroninjektionen zur Aufrechterhaltung der Gravidität notwendig (ALEXANDER und WILLIAMS 1966). Oestrogene werden zu dieser Zeit schon in ausreichender Menge außerhalb der Ovarien gebildet.

Zu der Hypothese, daß manche Aborte im zweiten und dritten Schwangerschaftsmonat durch ein Progesterondefizit bei der Übernahme der Produktion durch die Plazenta ausgelöst würdeen, konnten KAUFMANN und Mitarbeiter (1951) aufgrund der Pregnandiolausscheidung im Urin schwangerer Frauen keine Aussagen machen. In den meisten veröffentlichten Untersuchungen wie auch in der vorliegenden Arbeit zeigt die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase von der 6.Schwangerschaftswoche bis zum Termin gleichbleibend starke Aktivitäten. Mit diesen Befunden kann jedoch nicht der Beweis erbracht werden, daß die Progesteronproduktion zu allen Zeiten im erforderlichen Ausmaß erfolgt. Die Anwesenheit dieses einen Fermentes bedeutet nicht notwendigerweise einen ungestörten Ablauf all der anderen für die Synthese notwendigen Reaktionsschritte. Die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase ist auch an der Oestrogensynthese beteiligt, wie später noch ausführlicher dargelegt wird.
Die Oestrogene werden in der Plazenta schon von Beginn der Entwicklung an gebildet (PHILIPP 1957: ALEXANDER und WILLIAMS 1966). Die Aktivität der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase sagt demnach nur allgemein über die Fähigkeit der Plazenta zur Steroidproduktion etwas aus.

Über den Hauptort der Oestrogensynthese in der Schwangerschaft wird noch diskutiert. DICZFALUSY und LAURITZEN (1961) nahmen als gesichert an, daß die Oestrogene während der Gravidität vorwiegend in der Plazenta gebildet werden und brachten eine Zusammenstellung der Beobachtungen, die dafür sprachen. Inzwischen lassen jedoch biochemische Untersuchungen vermuten, daß die Plazenta die Oestrogene nicht vollständig synthetisiert (FRANDSEN 1964; BAILLIE, CAMERON und Mitarbeiter 1965; DAEMEN 1965). DAEMEN beobachtete in Fällen von Anencephalie mit Atrophie der foetalen Zone der Nebennierenrinde eine gegen-

über normalen Graviditäten verminderte Ausscheidung von Phenolsteroiden im Harn der Mutter. Bei den selten vorkommenden Anencephali mit normal entwickelter Nebennierenrinde ist auch die Oestrogenausscheidung der Mutter normal. Die foetale Zone der Nebennierenrinde, die nach der Geburt atrophiert, ist demnach an der Oestrogensynthese beteiligt. PHILIPP (1955 B) konnte bei Anencephali mit Atrophie der Nebennierenrinde keine Veränderung der Oestrogenausscheidung feststellen. DAEMEN vermutet, daß das von der Nebennierenrinde gebildete Dehydroepiandrosteron-Sulfat in der Plazenta zu Oestradiol und Oestron umgesetzt wird. Zur gleichen Überzeugung kommen BAILLIE, CAMERON und Mitarbeiter aufgrund histochemischer Untersuchungen an Nebennieren und Plazenten.

Die Mitbeteiligung des Foeten an der Bildung der Oestrogene scheint die Ursache dafür zu sein, daß sich der Zustand des Foeten so genau in der Oestrogenausscheidung im mütterlichen Harn abzeichnet (FRANDSEN 1964). Schwer zu deuten sind in diesem Zusammenhang die Untersuchungsergebnisse CASSMERS (1959). Er klemmte die Nabelschnur ab, während er Foetus und Plazenta im Uterus beließ. Die Ausscheidung von 17ß-Oestradiol, Oestron und Oestriol im mütterlichen Harn fiel stark ab, die Pregnandiolausscheidung blieb unverändert entsprechend der vollständigen Synthese des Progesterons in der Plazenta. Wurde die Plazenta von der kindlichen Seite her mit mütterlichem Blut durchströmt, so stellte sich die normale Oestrogenausscheidung wieder ein. Nach HAUSKNECHT (1965) scheint die mütterliche Nebenniere in der Spätschwangerschaft nicht Dehydroepiandrosteron zur Oestrogensynthese in der Plazenta beizutragen.

Der erste Schritt der Umwandlung von Dehydroepiandrosteron zu Oestrogenen in der Plazenta wird von der 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase katalysiert. Die vorliegende Untersuchung bestätigt mit dem Nachweis dieses Ferments, daß die Bildung von Oestrogenen auf diesem Wege nur im Sycytium möglich ist.

DAIBER (1966) wies im Trophoblast eine große Anzahl von Fermenten nach, die in den Hormon-produzierenden Formationen des Ovars ebenfalls zu lokalisieren sind (KÖNIG 1965). Sie vermutet, daß man daraus auf eine gleichartige Funktion der Gewebe im Steroidstoffwechsel schließen kann. Nach RYAN (1962) können alle Gewebe mit Steroidproduktion mit seltenen Ausnahmen alle Steroidhormone synthetisieren. Die Plazenta scheint daher auch Oestrogene über Progesteron vollständig zu synthetisieren.

Die gegenseitige Umwandlung von 17ß-Oestradiol und Oestron ist in allen Zellen der Plazenta möglich, wie die vorliegende Untersuchung der 17ß-Oestradiol-Dehydrogenase mit NAD als Coenzym nachweist. KELLOG und GLENNER (1960) fanden für das NAD-abhängige Ferment ein anderes Verteilungsmuster (die Reaktionen waren in Trophoblast und Decidua am stärksten, in den Stromazellen weniger intensiv) als für das von NADP abhängige (positive Reaktionen waren nur im perivaskulären Stroma zu sehen). Aufgrund der verschiedenen Lokalisation der zwei Fermenttypen in den Zellformationen der Plazenta halten die beiden Autoren eine Transhydrogenasefunktion der 17ß-Oestradiol-Dehydrogenase nicht für möglich. Sie befinden sich damit in Übereinstimmung mit HAGERMANN und VILLEE (1958), die in biochemischen Untersuchungen nachweisen konnten, daß weder die durch Oestrogene stimulierbare Pyridinnucleotid-Transhydrogenase die Dehydrierung des 17ß-Oestradiols noch die 17ß-Oestradiol-Dehydrogenase die Wasserstoffübertragung zwischen den Coenzymen katalysiert. KELLOG und GLENNER vermuten, daß sich im Verteilungsmuster der beiden Fermente qualitativ verschiedene Funktionen des 17ß-Oestradiols in den einzelnen Zellen widerspiegeln.

Über die Regulation der Hormonproduktion in der Plazenta ist noch wenig bekannt. Wahrscheinlich besitzt das Chorion-gonadotropin einen regulierenden Einfluß auf den plazentaren Steroidstoffwechsel (PHILIPP 1955 A und B; DICZFALUSY und LAURITZEN 1961), vielleicht über ein Aktivierung der Glucose-

6-phosphat-Dehydrogenase, wie es McKERNS und NORDSTRAND (1965) für das Ovar vermuten. Die Oestrogene wiederum stimulieren über die Pyridinnucleotid-Transhydrogenase den Pentosephosphatcyclus und damit die Choriongonadotropin-Produktion. Gleichzeitig wird durch die Oestrogenwirkung weniger NADPH für die Synthese der Steroidhormone zur Verfügung gestellt. RYAN, MEIGS und PETRO (1966) stellten fest, daß in Plazentahomogenaten die Progesteronproduktion nur durch Zugabe von NADPH und durch verlängerte Inkubationszeit zu beeinflussen ist; Zugabe von Cholesterin, Cholesterinsulfat, Choriongonadotropin, Mg^{++}-Ionen, Fumarat, Adenosintriphosphat oder Glucose zeigte keine Wirkung. Durch die Oestrogene, an deren Synthese der Foetus beteiligt zu sein scheint, werden von der Frucht regulierende Impulse auf das plazentare Hormonsystem beigesteuert.

Zusammenfassung

In der jungen und reifen menschlichen Plazenta wurden die NADH- und die NADPH-Diaphorase und 7 Dehydrogenasen: die Laktatdehydrogenase, Dehydrogenasen des Citronensäurecyclus und des Pentosephosphatcyclus sowie die 3ß- und die 17ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase histochemisch dargestellt.

4 der untersuchten Plazenten stammten von normalen, ausgetragenen Schwangerschaften, 1 von einer Spontangeburt in der 40. Woche bei schwerer Eklampsie mit tödlichem Ausgang, 1 von einer Geburt, die wegen Nephropathie in der 36. Woche eingeleitet wurde. Es wurden außerdem 10 Plazenten von Aborten im Schwangerschaftsalter von 8, 9, 10, 11, 12, 15 (2), 18, 20 und 22 Wochen, unter denen sich auch ein Windei im Alter von 14 Wochen befand, 4 Plazenten von Tubaraborten der 8. (2) und 9. (2) Woche sowie 5 Plazenten von Schwangerschaftsunterbrechungen in der 7., 9., 11., 13.,und 19. Woche untersucht.

Die beiden Diaphorasen zeigten in Syncytium und Decidua sehr hohe Aktivitäten. Die NADH-Diaphorase reagierte im Cytotrophoblast ebenso stark wie im Syncytium, die NADPH-Diaphorase hingegen mit wenigen Ausnahmen wesentlich schwächer. Die Aktivität der NADH-Diaphorase war im Stroma stärker als die der NADPH-Diaphorase.

Von den Dehydrogenasen des Citronensäurecyclus wies die Succinatdehydrogenase nur schwache Reaktionen in Trophoblast und Decidua und sehr schwache in Stroma und Gefäßen auf, während die Malatdehydrogenase in allen Zellformationen hohe Aktivitäten zeigte. Bei der NADP-abhängigen Isocitratdehydrogenase fanden sich in Syncytium und Decidua ebenso intensive Reaktionen wie bei der Malatdehydrogenase; Stroma und Gefäße sowie vor allem der Cytotrophoblast reagierten sehr schwach.

Die Laktatdehydrogenase zeigte in Trophoblast und Deci-

dua stark positive und in Stromazellen und Gefäßen etwas schwächere Reaktionen.

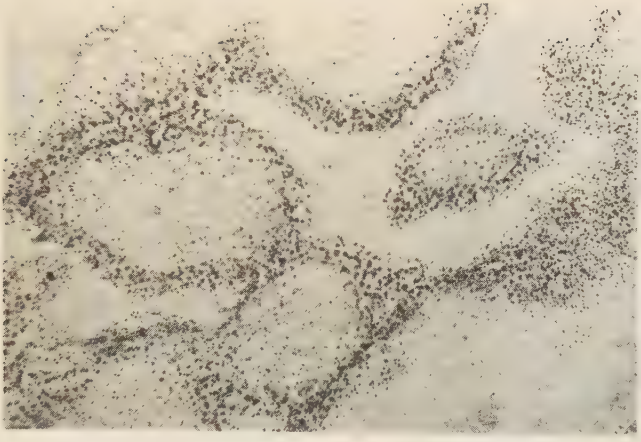
Bei der NADP-abhängigen Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase fand sich die gleiche Verteilung der Fermentaktivität wie bei der NADP-abhängigen Isocitratdehydrogenase, nur die Deciduazellen reagierten etwas schwächer.

Von den beiden untersuchten Hydroxysteroid-Dehydrogenasen wies die 3ß-Hydroxysteroid-Dehydrogenase nur im Syncytium Fermentaktivität auf. Die 17ß-Oestradiol-Dehydrogenase zeigte in allen Zellformationen mäßig starke Reaktionen.

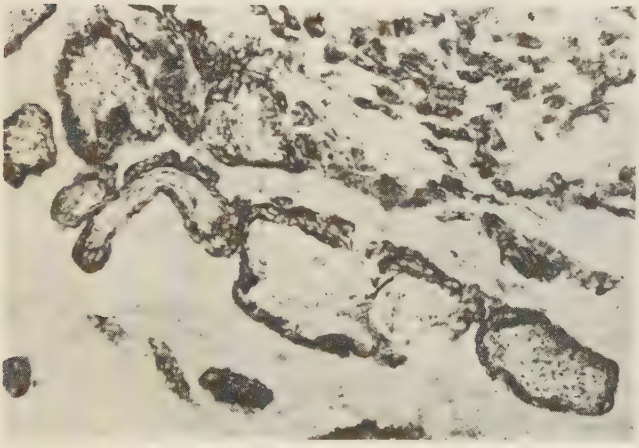
Die Biochemie der Oxydationscyclen und Fermente wird in den Grundzügen dargestellt. Entsprechende histochemische Untersuchungen der Literatur werden ausführlich referiert.

Es wird in eigenen Experimenten festgestellt, daß im Cytotrophoblast nur die Aktivität der NADPH-Diaphorase vermindert ist gegenüber dem Syncytium und den begrenzenden Faktor bei den Reaktionen der Isocitrat- und der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase darstellt. Pathologische Plazenten zeigten mit Ausnahme der Plazenta eines Windeies keine Veränderungen in den Enzymaktivitäten gegenüber normalen Plazenten. Änderungen der Fermentaktivitäten im Verlauf der Gravidität sind, außer einer leichten Abnahme bei der Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase am Ende der Schwangerschaft, nicht zu beobachten.

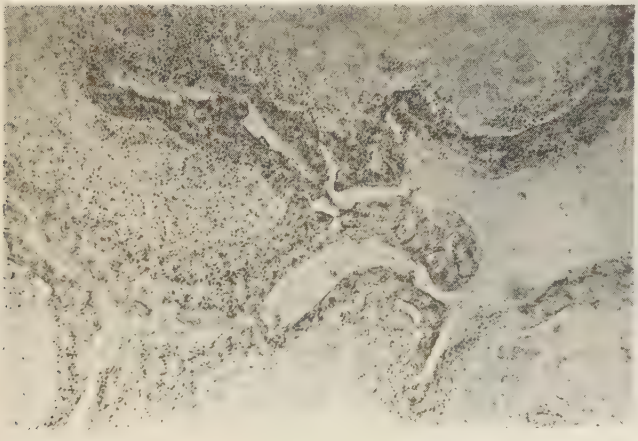
Progesteron- und Oestrogensynthese und ihre Regulationsmechanismen werden unter Auswertung der Literatur diskutiert.



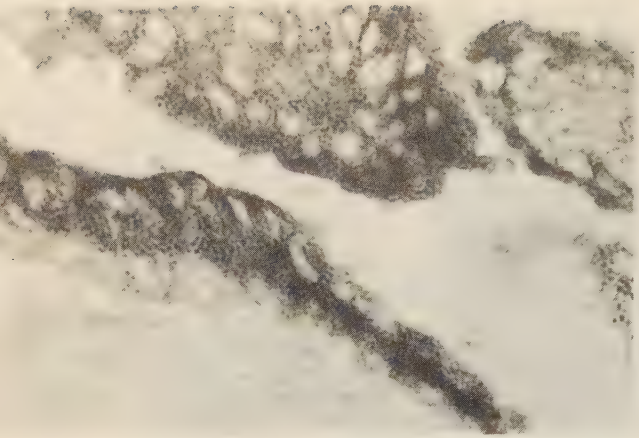
Succinatdehydrogenase
(nach NACHLAS, CRAWFORD und SELIGMAN 1956)
Plazenta 8. Woche
Vergrößerung 100



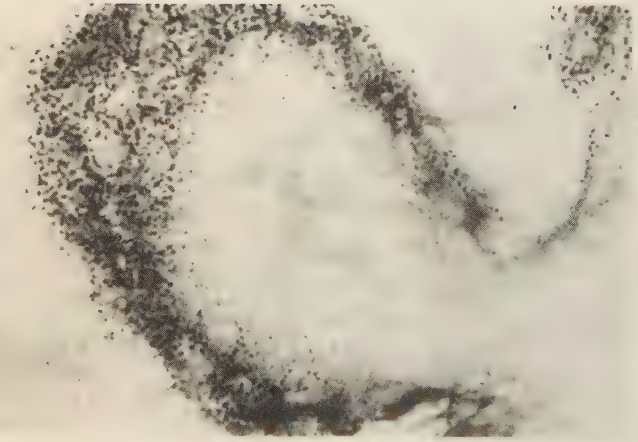
Malatdehydrogenase
(nach HESS, SCARPELLI und PEARSE 1958)
Plazenta 13. Woche
Vergrößerung 64



17ß-Oestradiol-Dehydrogenase
(nach KELLOG und GLENNER 1960)
Plazenta 8. Woche
Vergrößerung 128



NADPH-Diaphorase
(nach NASU und VIALE 1961)
Plazenta 8. Woche
Vergrößerung 256 x



Isocitratdehydrogenase
(nach HESS, SCARPELLI und
PEARSE 1958)
Plazenta 8. Woche
Vergrößerung 315 x

Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase
(nach HESS, SCARPELLI und
PEARSE 1958)
Plazenta 8. Woche
Vergrößerung 252 x

Literaturverzeichnis

Alexander, G.
Williams, D.
Progesterone and placental development in the sheep.
J. Endocr. 34, 241 (1966)

Allen, J.M.
A histochemical study of 3ß-sterol-dehydrogenase in the adrenal of the developing mouse.
Anat. Rec. 137,57 (1960)

Ammon, R.
Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander.
1. Fermente (1959)
2. Hormone (1960)
Georg Thieme, Stuttgart

Baillie, A.H.
Cameron, E.H.D.
Griffiths, K.
3ß-hydroxysteroid-dehydrogenase in adrenal gland and placenta.
J. Endocr. 31, 227 (1965)

Barka, T.
Anderson, P.J.
Histochemistry.
Hoeber Medical Division, Harper and Row, New York, Evanston, London 1963

Becker, V.
Funktionelle Morphologie der Plazenta.
Arch. Gynäk. 198, 3 (1963)

Betz, G.
Warren, J.C.
Studies with glucose-6-phosphate dehydrogenase from human placenta.
Acta Endocr. 49, 47 (1965)

Boss, H.J.
Craig, J.M.
Histochemical distribution patterns of the oxydative enzymes in the human placenta.
Obstet. and Gynec. 20, 572 (1962)

Colowich, S.P.
Kaplan, N.D.
Methods in enzymologie.
Academic Press, New York, London 1962

Curzen, P.
Variations in the enzyme histochemistry of the placenta.
J. Obstet. Gynec. Brit. Commonwealth 71, 388 (1964)

Daemen, M.
la surrénale foetale et la synthèse des oestrogènes.
Bull. Soc. roy. belge Gynéc. Obstét. 35, 385 (1965)

Daiber, G.
Enzymmuster der jungen und reifen menschlichen Plazenta in Korrelation zu den Plazentahormonen.
Inaug.-Diss. 1966, Tübingen

Dancis, J.
The role of the placenta in fetal survival. Ped. Clin. N. Amer. 12, 477 (1965)

Deane, H.W.
Barnett, R.J.
Seligman, A.M.
Histochemische Methoden zum Nachweis von Enzymaktivität. Bd. VII, 1. Teil In: Graumann, W. und Neumann, K. Handbuch der Histochemie, Fischer Stuttgart 1960

Deane, H.W.
Lobel, B.L.
Romney, S.L.
Enzymic histochemistry of normal ovaries of the menstrual cycle, pregnancy and the early puerperium. Am. J. Obstet. Gynec. 83, 281 (1962)

Deane, H.W.
Rubin, B.L.
Driks, E.C.
Lobel, B.L.
Leipsner, G.
Trophoblastic giant cells in placenta of rats and mice and their probable role in steroid-hormone production. Endocrinol. 70, 407 (1962)

Diczfalusy, E.
Chorionic gonadotropin and oestrogens in the human placenta. Acta Endocr. 12, Suppl. 12, 175 (1953)

Diczfalusy, E.
Lauritzen, C.
Oestrogene beim Menschen. Springer-Verlag, Berlin 1961

Fieser, L.F.u.M.
Steroide. Verlag Chemie, Weinheim/Bergstr. 1961

Flaschenträger, B.
Lehnartz, E.
Der Stoffwechsel. 1.Teil. In: Physiologische Chemie. Bd. II, 1.Teil, Bandteil b, Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954

Foraker, A.G.
Denham, S.W.
Mitchell, D.D.
Dehydrogenase activity. III In the rabbit placenta. Obstet. Gynec. 4, 527 (1954), zit. nach Handbuch der Histochemie. Bd. VII, 3. Teil, Fischer, Stuttgart 1960

Frandsen, V.A.
Le lieu de production des hormones oestrogènes pendant la grossesse humaine. Rev. europ. Endocr. 1, 25 (1964)

Fuchs, F.
Endocrine factors in the maintenance of pregnancy. Acta Obstet. Gynec. Scand. 41, Suppl. 1 (1962)

Fuhrmann, K.
Über den histochemischen Nachweis der 3ß-ol-Steroiddehydrogenase-Aktivität in Geweben endokriner Organe. Zbl. Gynäk. 83, 565 (1961)

Geller, H.-F.
Über die sogenannten Hofbauerzellen in der reifen menschlichen Plazenta. Arch. Gynäk. 188, 481 (1957)

Goldberg, B.
Steroid 3ß-ol dehydrogenase activity in human endocrine tissues. Amer. J. Obstet. Gynec. 86, 349 (1963)

Hafez, E.S.E.	Uterine and placental enzymes. Acta Endocr. 46, 217 (1964)
Hagermann, D.D.	Estrogen-sensitive isocitric dehydrogenase. J.Biol. Chem. 229, 589 (1957)
	Separation of human placental estrogen-sensitive transhydrogenase from estradiol-17ß-dehydrogenase. J. Biol. Chem. 234, 2031 (1958)
Hart, D.McK.	Hydroxysteroid dehydrogenase activity in normal human placenta from 6 weeks of gestation to 42 weeks. J. Endocr. 35, 255 (1966 A)
	The histochemical distribution of hydroxysteroid dehydrogenases in the human foetal membranes at term. Histochemie 6, 17 (1966 B)
Hausknecht, R.U.	Maternal dehydroepiandrosterone and estrogen production in late pregnancy. Obstet. Gynec. 26, 544 (1965)
Hess, R. Scarpelli, D.G. Pearse, A.G.E.	Cytochemical localisation of pyridine nucleotide-linked dehydrogenases. Nature 181, 1531 (1958)
Hollander, V.P. Hollander, N. Brown, J.D.	The estrogen-sensitive enzyme system from placenta. J.Biol. Chem. 234, 1678 (1958)
Kaplan, N.O. Colowich, S.P. Neufeld, E.F.	Pyridine nucleotide transhydrogenase. III Animal tissue transhydrogenase. J. Biol. Chem. 205, 1 (1953)
Kaufmann, C. Westphal, V. Zander, J.	Untersuchungen über die biologische Bedeutung der Ausscheidungsprodukte des Gelbkörperhormons. Arch. Gynäk. 179, 247 (1951)
Kellog, D.A. Glenner, G.G.	Histochemical localisation of human term placental 17ß-oestradiol-dehydrogenase. Implications for the transhydrogenase reaction. Nature 187, 763 (1960)
Kleiner, H. Wilkin, P. Snoeck, J.	Lokalisation der Steroiddehydrogenasen und der Leucinaminopeptidase in der menschlichen Plazenta. Gebh. u. Frauenhlk. 22, 986 (1962)
Klopper, A. Billewicz, W.	Urinary excretion of oestriol and pregnanediol during normal pregnancy. J. Obstet. Gynec. Brit. Commonwealth 70, 1024 (1963)
Koide, S.S. Mitsudo, S.M.	Histochemical study of 3ß- and 17ß-hydroxysteroid dehydrogenases in human term placenta. Endocrinol.76,403 (1965)

König, P.A. — Histotopochemie von Enzymen im menschlichen Ovarium. Fortschr. Geburtsh. Gynäk. vol 23 Karger, Basel, N.Y. 1965

Kumar, D. Azoury, R.S. Barnes, A.C. — Studies on human premature birth. I Placental progesterone concentrations. Amer. J. Obstet. Gynec. 87, 126 (1963)

Kyank, H. — Untersuchungen über die Succinatdehydrogenaseaktivität in der Plazenta normaler Schwangerer und Toxikosen. Zbl. Gynäk. 79, 1633 (1957)

Fermente in der normalen und Toxikoseplazenta. Gynaecologia 145, 145 (1958)

Langer, L.J. Engel, L.L. — Human placental estradiol-17ß-dehydrogenase. I Concentration, characterisation and assay. J. Biol. Chem. 233, 583 (1958)

Langer, L.J. — Human placental 17ß-estradiol-dehydrogenase. II Kinetics and substrate specifities. J. Biol. Chem. 234, 2609 (1959)

Lapan, B. Friedman, M.M. — Tissue enzymes in gestation: Comparative activities in the placenta and fetal membranes. Amer. J. Obstet. Gynec. 93, 1157 (1965)

Leuthardt, F. — Lehrbuch der physiologischen Chemie. Walter de Gruyter & Co, Berlin 1963

Levy, H. Deane, H.W. Rubin, B.L. — Visualization of steroid 3ß-ol dehydrogenase activity in tissues of intact and hypophysectomized rats. Endocrinol. 65, 932 (1959)

Lobel, B.L. Deane, H.W. Romney, S.L. — Enzymic histochemistry of the villous portion of the human placenta from six weeks of gestation to term. Amer. J. Obstet. Gynec. 83, 295 (1962)

Malaty, H.A. Bourne, G.H. — Histochemistry of succinic dehydrogenase. Nature, 171, 295 (1953)

Martius, C. — Der oxydative Endabbau. In: Physiologische Chemie. Bd. II, Teil 1b, 1025 Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954

McKerns, K.W. Bell, P.H. — The mechanism of action of estrogenic hormons on metabolism. Rec. Prog. Horm. Res. 16, 97 (1960)

McKerns, K.W. Nordstrand, E. — Stimulation of the rat ovary by gonadotropins and separation of steroids by gas chromatography. Biochim. Biophys. Acta 104, 237 (1965)

Myrbäck, K.	Die biologische Oxydation. In: Ammon, R. u. Dirscherl, W., Fermente, Hormone, Vitamine und die Beziehungen dieser Wirkstoffe zueinander. I Fermente. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1959
Nachlas, M.M. Crawford, D.T. Seligman, A.M.	The histochemical demonstation of leucin aminopeptidase. J. Histochem. Cytochem. 4, 423 (1956)
Nasu, H. Viale, G.L.	Über die Anwendung von Nicotinsäureamid beim histochemischen Nachweis Pyridinnucleotid-gebundener Enzyme im Hirngewebe. Histochemie 2,322 (1961)
Padykula, H.A.	The localisation of succinic dehydrogenase in tissue sections of the rat. Amer. J. Anat. 91, 107 (1952)
	The histochemical and quantitative study of enzymes of the rat placenta. J. Anat. 92, 118 (1958)
Pearse, A.G.E.	Histochemistry. Churchill, London 1960
Pearse, A.G.E. Scarpelli, D.G.	Cytochemical localisation of succinic dehydrogenase in mitochondria. Nature 181, 702 (1958)
Pearson, B. Grose, F.	Histochemical demonstration of 17β-hydroxysteroid dehydrogenase by use of tetrazolium salt. Proc.Soc.Exp.Biol.Med. 100, 636 (1959) zit. nach Kellog, D.A. u. Glenner, G.G. Nature 187, 763 (1960)
Philipp, E.	Die endokrine Funktion der Plazenta und ihre Bedeutung für die Klinik. Zbl. Gynäk. 77, 129 (1955 A)
	Die hormonale Wirkung der Plazenta. Dtsch. med. Wschr. 1955 (B) p.243
	Die Hormone der Plazenta. Therapiewoche 7, 238 (1957)
Plaut, G.W.E. Sung, S.-C.	Über die Existenz einer DPN-spezifischen Isocitratdehydrogenase. J. Biol. Chem. 207, 305 (1954)
Pulkkinen, M.O. Willman, K.	Steroid hormone conjugates and certain enzymes. Acta Obstet. Scand. 43, Suppl. 7, 51 (1965)
Ryan, K.J.	Hormones of the placenta. Amer, J. Obstet. Gynec. 84, 1695 (1962)
Ryan, K.J. Meigs, R. Petro, Z.	The formation of progesterone by the human placenta. Amer. J. Obstet. Gynec. 96, 676 (1966)

Schreiner, W.E. — Die Bedeutung der Plazenta beim feto-maternen Stoffaustausch. Materia Med. Nordmark XVIII 11, 656 (1966)

Schwers, J.
Eriksson, G.
Diczfalusy, E. — Metabolism of oestrone and oestradiol in the human foeto-placental unit at midpregnancy. Acta Endocr. 49, 65 (1965)

Seligman, A.M.
Rutenburg, A.M. — Histochemical demonstration of succinic dehydrogenase. Science 113, 417 (1951)

Stark, G.
Oweis, E. — Transaminasen (GOT, GPT) und Dehydrogenasen (LDH, MDH) in normalen und pathologischen Plazenten. Arch. Gynäk. 199, 124 (1963)

Staudinger, H.J.
Stoeck, G. — Stoffwechsel der Steroidhormone. In: Physiologische Chemie. Bd. II, Teil 1b, p.879. Springer-Verlag, Berlin, Göttingen, Heidelberg 1954

Strauß, F.
Benirschke, K.
Driscoll, S.G. — Placenta. In: Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie und Histologie. Bd. VII, Teil 5. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 1967

Strauß, G.
Hiersche, H.D. — Untersuchungen zur Problematik der histochemischen Fermentlokalisation in der Plazenta. Arch. Gynäk. 198, 187 (1963)

Talalay, T.
Williams-Ashman, H.G. — I Mechanism of hormon action. Participation of steroid hormones in the enzymatic transfer of hydrogen. In: Pincus, G.: Progress in hormon research, Acad. Press, New York 1960

Tellkä, A.
Letho, L. — Histochemical demonstrable succinic dehydrogenase activity in placental tissue. Ann. Med. Exptl. Fenniae 32, 292 (1954), zit. nach Handbuch der Histochemie, Bd. VII, 3. Teil, Fischer, Stuttgart 1960

Thomsen, K. — Studien zur Histochemie der Plazenta. Geburtsh. u. Frauenhlk. 18, 354 (1958)

Thomsen, K.
Blankenburg, H. — Über die Entwicklung und Rückbildung der Langhansschen Zellschicht in der menschlichen Plazenta. Arch. Gynäk. 187, 638 (1956)

Velardo, J.T.
Rosa, C.G. — Femal genital system. In: Graumann, W. u. Neumann, K., Handbuch der Histochemie, Fischer, Stuttgart 1960

Villee, C.A. — An estradiol induced stimulation of citrate utilization by placenta. J. Biol. Chem. 215, 171 (1955)

Villee, C.A.	Metabolism of the placenta. Amer. J. Obstet. Gynec. 84, 1684 (1962)
Villee, C.A. Hagermann, D.D.	Effects of estradiol on the metabolism of human placenta in vitro. J. Biol. Chem. 205, 873 (1953)
Villee, C.A. Hagermann, D.D. Joel, D.B.	An enzymatic basis for the physiologic functions of estrogens. In: Pincus, G., Progress in hormon research, Acad. Press, New York 1960
Vollrath, L.	Das Enzymmuster der Meerschweinchen-plazenta und seine Veränderungen im Verlauf der Schwangerschaft. Histochemie 4, 397 (1965)
Wachstein, M. Meagher, J.G. Ortiz, J.	Enzymatic histochemistry of the term human placenta. Amer. J. Obstet. Gynec. 87, 13 (1963)
Watari, H. Kearney, E.B. Singer, T.P.	Studies on the respiratory chain-linked reduced nicotinamide adenine dinucleotide dehydrogenase. IV Transformations of the dehydrogenase into cytochrom c-reductase-diaphorase by the action of acid-ethanol. J. Biol. Chem. 238, 4063 (1963)
Wattenberg, L.W.	Mikroscopic histochemical demonstration of steroid 3ß-ol dehydrogenase in tissue sections. J. Histochem. Cytochem. 6, 225 (1958)
Wielenga, G. Willighagen, R.G.J.	Histochemistry of the syncytiotrophoblast and the stroma in the normal full-term placenta. Amer, J. Obstet. Gynec. 84, 1059 (1962)
Wilkin, P.	Pathologie du placenta. Masson & Cie, Paris 1965
Zander, J.	Die Hormonbildung der Plazenta und ihre Bedeutung für die Frucht. Arch. Gynäk. 198, 113 (1963)
Zander, J. Münstermann, A.v.	Progesteron im menschlichen Blut und Gewebe. III Progesteron in der Plazenta, in der Uterusschleimhaut und im Fruchtwasser. Klin. Wschr. 1956 p.944

L e b e n s l a u f

Als Tochter des Sparkassenangestellten Fritz Lindner und seiner Frau Louise geb. Protzer wurde ich, Ursula Lindner, am 20. August 1944 in Nürnberg geboren. Von 1950 bis 1954 besuchte ich die Volksschule und anschließend das Gymnasium mit Oberrealschule in Bad Windsheim. Im Juli 1963 bestand ich dort die Reifeprüfung.

Im Wintersemester 1963/64 begann ich in Erlangen das Medizinstudium. Nach zwei Semestern legte ich dort das Vorphysikum und nach fünf Semestern das Physikum ab. Die klinischen Semester studierte ich an der Universität Tübingen und bestand im Wintersemester 1969/70 das Staatsexamen.